

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 56-072687  
(43)Date of publication of application : 16.06.1981

(51)Int.Cl. C12M 1/40

(21)Application number : 54-150944  
(22)Date of filing : 20.11.1979

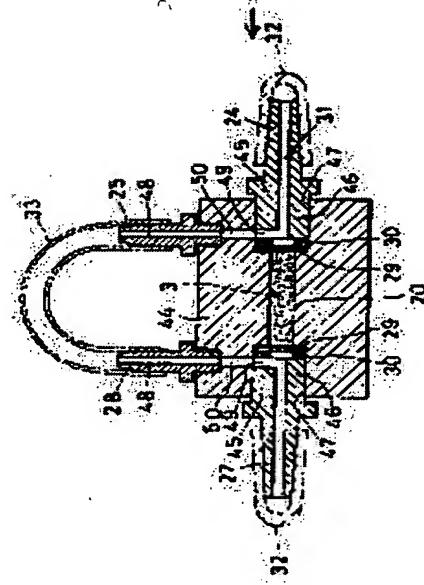
(71)Applicant : FUJISAWA PHARMACEUT CO LTD  
(72)Inventor : NAKAJIMA TAKAO  
TERADA MASABUMI  
MORI TORU

**(54) COLUMN CONTAINING IMMOBILIZED ENZYME**

**(57)Abstract:**

**PURPOSE:** To obtain the results of an analysis, in high accuracy, in a short time, by providing a by-pass of bubbles between the inlet and the outlet of a column.

**CONSTITUTION:** The main body 44 of column is furnished with a cylinder 20 packed with immobilized enzyme 3. The both ends of the cylinder 20 are closed with filters 29. The sample solutions are supplied together with partitioning bubbles from the inlet 24, and passed through the column. The bubbles are separated from the solution at the bubble extracting opening 25, passed through the tube 33, and joined with the sample solution at the bubble supplying opening 28 furnished at the outlet-side of the column.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

⑯ 日本国特許庁 (JP) ⑯ 特許出願公開  
⑯ 公開特許公報 (A) 昭56-72687

⑮ Int. Cl.<sup>3</sup>  
C 12 M 1/40

識別記号 行内整理番号  
6712-4B

⑯ 公開 昭和56年(1981)6月16日

発明の数 1  
審査請求 未請求

(全 5 頁)

⑯ 固定化酵素カラム

⑯ 特 願 昭54-150944  
⑯ 出 願 昭54(1979)11月20日  
⑯ 発明者 中島孝夫  
奈良市西大寺新町2丁目4番22号

⑯ 発明者 寺田正文  
東大阪市菱屋東1丁目3番10号  
⑯ 発明者 森徹  
池田市緑ヶ丘2丁目1番8号206  
⑯ 出願人 藤沢薬品工業株式会社  
大阪市東区道修町4丁目3番地  
⑯ 代理人 弁理士 岸本守一 外2名

明細書

1. 発明の名称

固定化酵素カラム

2. 特許請求の範囲

サンプル供給口④からサンプル排出口④に至る通路④を備えたカラム本体④に、通路④と連通するようにサンプル排出口寄りに気泡供給口④が設けられ、同通路④と連通するようにサンプル供給口寄りに気泡抜取口④が設けられ、気泡供給口④と気泡抜取口④との間の通路中に両端がフィルタ④で仕切られた固定化酵素収容部④が形成せられている固定化酵素カラム。

3. 発明の詳細な説明

この発明は、臨床検査において血清中または尿中などに含まれる物質を酵素を利用して分析する化学自動分析装置に用いられる固定化酵素

カラムに関する。

固定化酵素カラムには、その後端にサンプル供給チューブが接続せられ、その前端にサンプル排出チューブが接続せられる。従来各チューブは、カラムの近くにおいて2つに分けられており、これらが3方継手の2つの接続部を介して接続されている。サンプル供給チューブ側の継手の残り1つの接続部には、気泡抜取チューブが接続せられ、サンプル排出チューブ側の継手の残り1つの接続部には、気泡供給チューブが接続せられている。サンプル供給チューブの後寄りには、サンプルを気泡により分節するため、空気を間けつ的に供給する空気供給チューブが接続せられている。サンプルを気泡により分節する理由は、カラムに供給されるサンプルが異なつたさい、先行サンプルとこれとは異種

の後続サンプルが混合し、分析値が不正確になるのを防止するためである。ところで、先行サンプルと後続サンプルの境界に、正確に気泡を介在させることは实际上困難を伴う。またサンプルが固定化酵素を通過するさい、気泡が存在すると、これがサンプル<sup>中</sup>に分散し、分析値に悪影響を与えるため、カラム内の固定化酵素収容部の手前でサンプルから気泡を抜取り、サンプルが固定化酵素を通過した後再び気泡を供給する必要があるが、気泡を抜取ると先行サンプルと後続サンプルが混合し、気泡をサンプルに導入した意味がなくなる。このような問題をなくするために、同一のサンプルに対して幾つかの分節用気泡が所定間隔おきに存在するよう、空気が供給せられる。ところで、カラム内の固定化酵素収容部と気泡抜取チューブとの間、固定

(3)

の担体に固定化せられた酵素(3)が充填せられている。サンプラー(4)は周縁部に多数のサンプル・カップ(5)を有しあつ間けつ回転する円形台(6)よりなる。カラム(1)の後端には、サンプル供給チューブ(7)の前端が接続せられ、その後端は吸上げ部材(8)を介してサンプル・カップ(5)に連絡せられている。カラム(1)の前端には、サンプル排出チューブ(9)の後端が接続せられており、その前端の排出口と後端との中間に比色計凹(10)が配置せられ、これで測定せられた値が電気信号凹(11)として記録計(12)に送られる。供給チューブ(7)の後端寄りの位置には、サンプル凹(13)を気泡凹(14)により分節するため、空気を間けつ的に供給する空気供給チューブ凹(15)が接続せられている。チューブ(7)(9)は、カラム(1)の近くにおいて2つに分けられており、これらが3方接続の2つの接続部を

(5)

化酵素収容部と気泡供給チューブとの間には間隔がそれぞれ存在するが、各間隔は短ければ短かい程よい。何故なら、各間隔が長ければ長い程先行サンプルと後続のサンプルとが混ざり合う区間が長くなり、それだけ信頼しうるサンプルの分析部分が少なくなるからである。これを補うにはサンプル量を多くしなければならず、ひいては分析時間が長くなることになる。

この発明の目的は、短時間で高精度の分析結果が得られる固定化酵素カラムを提供することにある。

この発明を以下図面を参照して説明する。

第1図は、化学自動分析装置全体を示す。固定化酵素カラム(1)は従来のものであつて、その中央に貫通状に形成せられた水平通路よりなる固定化酵素収容部(2)に、ポーラス・ガラスなど

(4)

介して接続されている。サンプル供給チューブ(7)側の継手の残り1つの接続部には、気泡抜取チューブ凹(15)が接続せられ、サンプル排出チューブ(9)側の継手の残り1つの接続部には、気泡供給チューブ凹(15)が接続せられている。チューブ(7)凹(15)に定量ポンプ凹(16)が接続せられている。固定化酵素収容部(2)と気泡抜取チューブ凹(15)との間には間隔(D1)があり、固定化酵素収容部(2)と気泡供給チューブ凹(15)との間には間隔(D2)がある。

第2図および第3図は、この発明による固定化酵素カラムを示す。カラム本体(17)は直方体状であり、これらの中間に水平中空状固定化酵素収容部凹(18)が形成せられている。カラム本体(17)の前後には固定化酵素収容部凹(18)に続きかつこれより径の大きい円形凹部凹(19)が形成せられている。

各円形凹部側には、筒状部材側の基端に設けられた直筒状の嵌入部側が密にはめ込まれている。嵌入部側は凹部側から抜くことができるようになっている。カラム本体側の頂部には、気泡抜取口側と気泡供給口側を有するノズル側が上向きに突き出すようにねじ込まれている。筒状部材側の基端面には、ノズル側に向かつて溝側が形成せられている。カラム本体側には、溝側とノズル側をつなぐ連通孔側があけられている。カラム本体側の後側の筒状部材側の先端はサンプル供給口側となされ、同前側の筒状部材側の先端はサンプル排出口側となされている。凹部側の奥にはフィルタ側および環状パッキング側が順次収められている。カラム本体(44)の前後に筒状部材側がはめ止められることにより、カラムにはサンプル供給口側からサンプル排出口

(7)

成樹脂製チューブ側の端部がそれぞれはめられている。もちろん、気泡供給口側および気泡抜取口側にもチューブの代わりにキャップ側を施してもよい。また円形凹部側を雌ねじ部となし、直筒状の嵌入部側を雄ねじ部となし、筒状部材側をカラム本体側にねじ止めるようにしてもよい。また溝側を形成する代わりに孔をあけてよい。

この発明によるカラムを分析装置に組込むさいには、キャップ側およびチューブ側を外し、サンプル供給口側にサンプル供給チューブ(7)が、サンプル排出口側にサンプル排出チューブ(9)が、気泡供給口側に気泡供給チューブ側が、気泡抜取口側に気泡抜取チューブ側がそれぞれ接続される。

カラムに供給されるサンプルが異なつた場合、

(9)

即に至る通路(3)が形成せられ、この通路(3)中に両端がフィルタ側により仕切られた固定化酵素収容部側が形成せられていることになる。この収容部側にはあらかじめ固定化酵素(3)を収容しておいてもよいし、使用時に固定化酵素(3)を収容してもよい。カラム本体側、筒状部材側およびノズル側は、すべて透明硬質合成樹脂でつくられているが、カラム本体側中の酵素の種類を識別できるように、酵素の種類に対応して筒状部材側およびノズル側に着色を施し、色わけしておくことが好ましい。カラムを分析装置に組込む前は、酵素(3)の失活を防止するために、第3図に鎖線で示されているように、サンプル供給口側およびサンプル排出口側には軟質合成樹脂製キャップ側が施され、気泡供給口側および気泡抜取口側には逆H形に折曲げられた軟質合

(8)

先行サンプルが後続サンプルに影響を与えるが、いまはどう糖水溶液をサンプルとして用い、下表に示されているように、その濃度を変えて測定すると、第4図のグラフのようになる。第4図の縦軸には濃度がとられ、横軸には時間がとられている。このグラフは、従来の固定化酵素カラムが使用され、洗浄液(水)とサンプルが交互に供給されかつ同じ濃度のサンプルが3回宛供給された場合の濃度曲線を示す。サンプルの濃度が低いものから高いものに移る場合、第1回目に供給される濃いサンプルは、先行の濃度の低いサンプルの影響を受け、所定濃度より低くなる。逆にサンプルの濃度が高いものから低いものに移る場合、第1回目に供給される薄いサンプルは、先行の濃度の高いサンプルの影響を受け、所定濃度より高くなる。濃度の高い

サンプルのつぎに低いサンプルを供給する間に、もちろん洗浄液が供給されるのであるが、その洗浄液は濃度の低いサンプルより濃度が高くなっている。下表は、従来の固定化酵素カラムと、この発明によるカラムとにおける先行サンプルの後続サンプルに対する影響を比較したものである。第3回目に供給されたサンプルの濃度は所定の濃度を有するので、これを基準とし、第1回目に供給されたサンプルが先行のサンプルの影響を受け、濃度がどの程度の割合で低くなったり、高くなったりするかをみたものである。固定化酵素収容部と、気泡抜取チューブおよび気泡供給チューブとのそれぞれの間隔は、従来のカラムで10cm、この発明のカラムで0.5cmであった。

01

られ、同通路 $\varnothing$ と連通するようにサンプル供給口寄りに気泡抜取口 $\varnothing$ が設けられ、気泡供給口 $\varnothing$ と気泡抜取口 $\varnothing$ との間の通路中に両端がフィルタ $\varnothing$ で仕切られた固定化酵素収容部 $\varnothing$ が形成せられているので、カラム内の固定化酵素収容部 $\varnothing$ と気泡抜取チューブ $\varnothing$ との間の間隔、および固定化酵素収容部 $\varnothing$ と気泡供給チューブ $\varnothing$ との間の間隔が最小限になり、従来より少い量のサンプルで精度の高い分析ができるかつ分析時間を短縮することができる。

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図は化学自動分析装置全体の概略を示す説明図、第2図はこの発明による固定化酵素カラムの平面図、第3図は第2図のⅢ-Ⅲ線にそろ断面図、第4図は、分析時における先行サンプルの後続サンプルに対する影響を示すグラフ

サンプルの交換	影響割合 (%)	
	本発明品	従来品
100 $\text{mg}/\text{dL} \rightarrow 500\text{mg}/\text{dL}$	-0.8	-5.1
500 $\text{mg}/\text{dL} \rightarrow 100\text{mg}/\text{dL}$	7.3	55.0
100 $\text{mg}/\text{dL} \rightarrow 400\text{mg}/\text{dL}$	-0.9	-8.4
400 $\text{mg}/\text{dL} \rightarrow 100\text{mg}/\text{dL}$	4.6	44.0
100 $\text{mg}/\text{dL} \rightarrow 300\text{mg}/\text{dL}$	-2.2	-5.9
300 $\text{mg}/\text{dL} \rightarrow 100\text{mg}/\text{dL}$	2.0	26.5

上表から明らかなように、先行サンプルの後続サンプルに対する影響割合は、従来のカラムに較べ、この発明によるカラムの方がはるかに小さい。

この発明による固定化酵素カラムは、サンプル供給口 $\varnothing$ からサンプル排出口 $\varnothing$ に至る通路 $\varnothing$ を備えたカラム本体 $\varnothing$ に、通路 $\varnothing$ と連通するようサンプル排出口寄りに気泡供給口 $\varnothing$ が設け

02

である。

01 ... カラム本体、02 ... 固定化酵素収容部、03 ... 気泡抜取口、04 ... 気泡供給口、05 ... サンプル供給口、06 ... サンプル排出口、07 ... フィルタ、08 ... 通路。

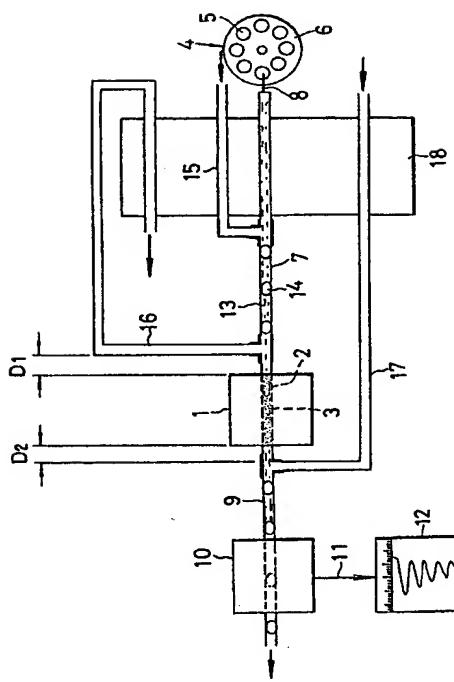
以 上

特許出願人 藤沢薬品工業株式会社

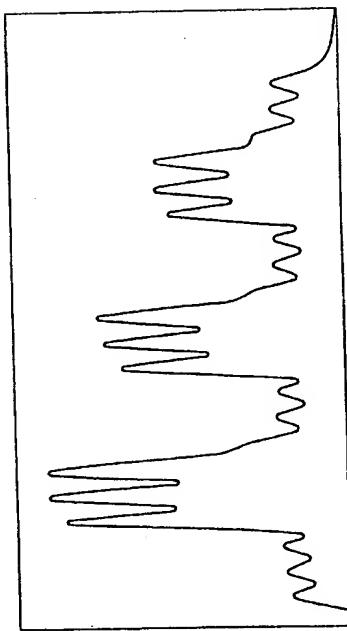
代理人 岸 本 守 一 (監修  
改定)

外2名

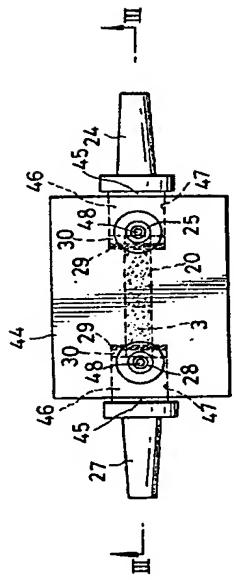
四  
1  
第



四四



第2圖



353

